

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2003-14765

(P2003-14765A)

(43) 公開日 平成15年1月15日 (2003.1.15)

(51) Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	データベース (参考)
G 0 1 N 33/553		C 0 1 N 33/553	2 G 0 5 9
21/27		21/27	C
33/543	5 9 5	33/543	5 9 5

審査請求 未請求 請求項の数 8 O L (全 8 頁)

(21) 出願番号 特願2001-200854 (P2001-200854)

(22) 出願日 平成13年7月2日 (2001.7.2)

(71) 出願人 000006792

理化学研究所

埼玉県和光市広沢2番1号

(72) 発明者 岡本 隆之

埼玉県和光市広沢2番1号 理化学研究所内

(72) 発明者 山口 一郎

埼玉県和光市広沢2番1号 理化学研究所内

(74) 代理人 10008/000

弁理士 上島 淳一

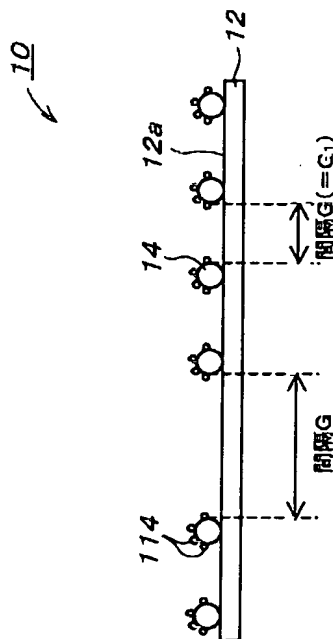
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 センサーおよびそれを用いた物質の反応の検出方法

(57) 【要約】

【課題】 抗原抗体反応などの各種物質の反応をリアルタイムで検出することを可能にする。

【解決手段】 第1の物質と第2の物質との反応を検出するために用いるセンサーであって、基板と、上記基板上に互いに相互作用を生じさせない間隔を開けてそれぞれ配設された、第1の金属微粒子と、上記第1の金属微粒子に結合された第1の物質とを有し、第2の物質を結合した第2の金属微粒子を上記基板に供給すると、上記第1の物質と上記第2の物質とが反応して結合することにより、上記第1の物質と上記第2の物質を介して上記第1の金属微粒子と上記第2の金属微粒子とが結合し、上記第1の金属微粒子と上記第2の金属微粒子とが互いに相互作用を生じさせるように近接する。



【特許請求の範囲】

【請求項1】 第1の物質と第2の物質との反応を検出するために用いるセンサーであって、

基板と、

前記基板上に互いに相互作用を生じさせない間隔を開けてそれぞれ配設された第1の金属微粒子と、

前記第1の金属微粒子に結合された第1の物質とを有し、

第2の物質を結合した第2の金属微粒子を前記基板に供給すると、前記第1の物質と前記第2の物質とが反応して結合することにより、前記第1の物質と前記第2の物質とを介して前記第1の金属微粒子と前記第2の金属微粒子とが結合し、前記第1の金属微粒子と前記第2の金属微粒子とが互いに相互作用を生じさせるように近接するセンサー。

【請求項2】 請求項1に記載のセンサーにおいて、前記基板は透明であるセンサー。

【請求項3】 請求項1または請求項2のいずれか1項に記載のセンサーにおいて、

前記第1の金属微粒子は、表面に前記第1の金属微粒子の原料となる金属膜を形成した前記基板を、所定温度で所定時間加熱してアニーリングすることにより前記基板上に配設されるセンサー。

【請求項4】 請求項1、請求項2または請求項3のいずれか1項に記載のセンサーにおいて、

前記第2の金属微粒子は、液体中に存在した状態で前記基板に供給されるものであるセンサー。

【請求項5】 請求項1、請求項2、請求項3または請求項4のいずれか1項に記載のセンサーにおいて、前記第1の金属微粒子ならび前記第2の金属微粒子は、金の微粒子であるセンサー。

【請求項6】 請求項1、請求項2、請求項3、請求項4または請求項5のいずれか1項に記載のセンサーにおいて、前記第1の物質と前記第2の物質とは、互いに高い選択性で結合する物質であるセンサー。

【請求項7】 請求項6に記載のセンサーにおいて、前記第1の物質は抗体と抗原とのいずれか一方であり、前記第2の物質は抗体と抗原とのいずれか他方であるセンサー。

【請求項8】 請求項1、請求項2、請求項3、請求項4、請求項5、請求項6または請求項7のいずれか1項に記載のセンサーを用いた物質の反応の検出方法において、

前記第1の物質と前記第2の物質とが反応して結合するときに、前記第1の金属微粒子と前記第2の金属微粒子との間の距離の変化により生ずる相互作用の影響を受けた表面プラズモン共鳴の共鳴波長のシフトを検出し、該検出された表面プラズモン共鳴の共鳴波長のシフトに基づいて第1の物質と第2の物質との反応を検出するもの

であるセンサーを用いた物質の反応の検出方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、センサーおよびそれを用いた物質の反応の検出方法に関し、さらに詳細には、各種物質の反応、例えば、抗原抗体反応などを検出する際の、所謂、バイオセンサーとして用いて好適なセンサーおよびそれを用いた物質の反応の検出方法に関する。

【0002】

【従来の技術】従来より、各種物質の反応、例えば、抗原抗体反応の検出には、蛍光分子で標識された抗体が用いられている。

【0003】ところで、こうした抗体を標識する蛍光分子は、抗体が抗原と結合せずに存在しても、また、抗体が抗原抗体反応により抗原と結合しても、同じ蛍光を発する。

【0004】このため、蛍光分子で標識された抗体を用いる場合には、抗原と結合せずに存在している抗体を洗浄処理によって取り除き、その後で、蛍光分子の発光を測定することにより抗原抗体反応の検出を行う必要があった。

【0005】即ち、蛍光分子で標識された抗体を用いる抗原抗体反応の検出には、上記したような洗浄処理を行うことが欠かせないので、抗原抗体反応をリアルタイムで検出することができないという問題点があった。

【0006】また、抗体を標識する蛍光分子の発光の測定には、光源としてレーザーを用いる必要があるので、抗原抗体反応を検出する装置が高価なものになるという問題点があった。

【0007】

【発明が解決しようとする課題】本発明は、上記したような従来の技術の有する種々の問題点に鑑みてなされたものであり、その目的とするところは、抗原抗体反応などの各種物質の反応をリアルタイムで検出することを可能にしたセンサーおよびそれを用いた物質の反応の検出方法を提供しようとするものである。

【0008】また、本発明の目的とするところは、抗原抗体反応などの各種物質の反応を検出する際に、安価に検出することを可能にしたセンサーおよびそれを用いた物質の反応の検出方法を提供しようとするものである。

【0009】

【課題を解決するための手段】上記目的を達成するために、本発明は、金属微粒子同士の間隔、即ち、金属微粒子と金属微粒子との間の距離の変化により生ずる金属微粒子同士の相互作用の影響を受けた表面プラズモン共鳴の共鳴波長のシフトを利用するようにしたものである。

【0010】より詳細には、粒径が入射光の波長より十分に小さい金や銀などの金属微粒子に、該入射光を照射すると、ある波長において非常に強い吸収が生じる。こ

れは金属微粒子中の自由電子が入射光の電場に対して共鳴的に振動するためであり、この現象は表面プラズモン共鳴と呼ばれている。

【0011】ここで、金属微粒子として金の微粒子を例にとって、表面プラズモン共鳴について説明する。

【0012】まず、金の微粒子が孤立して存在する場合、即ち、金の微粒子同士が互いに相互作用を生じさせない間隔を開けて離隔して存在する場合には、波長520 nm付近でこの表面プラズモン共鳴が起きる。その結果、緑色の光が吸収されて、金の微粒子は赤色を呈する。

【0013】なお、本明細書においては、「金属微粒子同士が互いに相互作用を生じさせない間隔を開けて離隔して存在する場合の表面プラズモン共鳴」を、「孤立金属微粒子による表面プラズモン共鳴」と適宜称することとする。また、「金属微粒子同士が互いに相互作用を生じさせない間隔」を、「所定の間隔G」と適宜称することとする。

【0014】そして、互いに相互作用を生じさせない所定の間隔Gを開けてそれぞれ離隔して存在している金属微粒子同士が接近して、金属微粒子と金属微粒子の間の距離が所定の間隔Gより短くなり、金属微粒子同士が互いに相互作用を生じさせるような状態で入射光を照射すると、2つの金属微粒子それぞれに電気双極子が誘起される。

【0015】この際、入射光の偏光方向が2つの金属微粒子を結ぶ軸と平行な場合には、この2つの双極子は強い相互作用を引き起こすことになる。その結果、金属微粒子には双極子だけではなく、四重極子や八重極子などの多重極子が励起される。この多重極子により、表面プラズモン共鳴の共鳴波長は長波長側にシフトする。

【0016】なお、本明細書においては、「金属微粒子同士の間隔が所定の間隔Gに比べて短くなり、金属微粒子の相互作用により影響を受けた表面プラズモン共鳴」を、「近接金属微粒子による表面プラズモン共鳴」と適宜称することとする。

【0017】ここで、図1には、粒径20 nmの金の微粒子同士の間隔と表面プラズモン共鳴の共鳴波長との関係を示すグラフが示されている。

【0018】金の微粒子の場合には、上記したように互いに所定の間隔Gを開けて離隔して存在するときには、孤立金属微粒子による表面プラズモン共鳴が波長520 nm付近で起きて赤色が呈される。

【0019】具体的に、図1に示す粒径20 nmの金の微粒子同士の場合には、金の微粒子同士の間隔がおおよそ50 nm (=所定の間隔G) のときに、孤立金属微粒子の表面プラズモン共鳴による共鳴ピークが波長520 nm付近に表れている。従って、金の微粒子同士の間隔がおおよそ50 nmの場合には、金の微粒子は赤色を呈している。

【0020】そして、金の微粒子同士の間隔が50 nmより短くなるのにもなると、表面プラズモン共鳴の共鳴波長は長波長側に徐々にシフトし、例えば、金の微粒子同士の間隔がおおよそ0.2 nmのときには、近接金属微粒子の表面プラズモン共鳴による共鳴ピークが波長700 nm付近に表れる。この際、金の微粒子が呈する色は赤色から変化して、金の微粒子は青紫色を呈するようになる。

【0021】また、図1に示すように、孤立金属微粒子の表面プラズモン共鳴による共鳴ピークの波長520 nm付近から共鳴波長がシフトする度合いは、金の微粒子同士の間隔がおおよそ50 nm、20 nm、10 nmの場合に比べて、金の微粒子同士の間隔がおおよそ0.5 nm、0.2 nm、0.1 nmの場合の方が大きくなっている。即ち、表面プラズモン共鳴の共鳴波長がシフトする度合いは、金属微粒子の粒径に対して金属微粒子と金属微粒子との間の距離が小さいほど大きくなるものである。

【0022】上記したような観点において、本発明のうち請求項1に記載の発明は、第1の物質と第2の物質との反応を検出するために用いるセンサーであって、基板と、上記基板上に互いに相互作用を生じさせない間隔を開けてそれぞれ配設された第1の金属微粒子と、上記第1の金属微粒子に結合された第1の物質とを有し、第2の物質を結合した第2の金属微粒子を上記基板に供給すると、上記第1の物質と上記第2の物質とが反応して結合することにより、上記第1の物質と上記第2の物質とを介して上記第1の金属微粒子と上記第2の金属微粒子とが結合し、上記第1の金属微粒子と上記第2の金属微粒子とが互いに相互作用を生じさせるように近接するようにしたものである。

【0023】従って、本発明のうち請求項1に記載の発明によれば、基板に配設された第1の金属微粒子に結合された第1の物質と、第2の金属微粒子に結合された第2の物質とが反応して結合すると、第1の物質と第2の物質とを介して第1の金属微粒子と第2の金属微粒子とが結合し、第1の金属微粒子と第2の金属微粒子とが互いに相互作用を生じさせるように近接して、表面プラズモン共鳴の共鳴波長が長波長側にシフトするので、第1の物質と第2の物質との反応をリアルタイムで検出することができるようになる。

【0024】また、「従来の技術」の項において示した蛍光分子で標識された抗体を用いた抗原抗体反応の検出には欠かせないレーザー光源も必要ないので、第1の物質と第2の物質との反応を安価に検出することができるようになる。

【0025】また、本発明のうち請求項2に記載の発明は、請求項1に記載の発明において、上記基板は透明であるようにしたものである。

【0026】従って、本発明のうち請求項2に記載の発

明によれば、センサーの基板が透明なので、吸収スペクトルの変化などを容易に観察することができ、表面プラズモン共鳴の共鳴波長の長波長側へのシフトを検出して各種反応を検出することができるようになる。

【0027】また、本発明のうち請求項3に記載の発明のように、請求項1または請求項2のいずれか1項に記載の発明において、上記第1の金属微粒子は、表面上記第1の金属微粒子の原料となる金属膜を形成した上記基板を、所定温度で所定時間加熱してアニーリングすることにより上記基板上に配設されるようにしてもよい。

【0028】このようにすると、第1の金属微粒子を基板の表面に、互いに相互作用を生じさせない間隔を開けて離れた状態でしかも高密度に配設することができる。

【0029】また、本発明のうち請求項4に記載の発明は、請求項1、請求項2または請求項3のいずれか1項に記載の発明において、上記第2の金属微粒子は、液体中に存在した状態で上記基板に供給されるようにしたものである。

【0030】従って、本発明のうち請求項4に記載の発明によれば、第2の金属微粒子は、液体中に存在した状態で外部から供給されるが、第2の物質が第1の物質と結合せずに液体中に存在している第2の金属微粒子は、表面プラズモン共鳴の共鳴波長の長波長側へのシフトには寄与しないので、第2の金属微粒子を含む液体を洗い流す必要はなく、第1の物質と第2の物質との反応をリアルタイムで検出することができる。

【0031】また、本発明のうち請求項5に記載の発明は、請求項1、請求項2、請求項3または請求項4のいずれか1項に記載の発明において、上記第1の金属微粒子ならびに上記第2の金属微粒子は、金の微粒子であるようにしたものである。

【0032】従って、本発明のうち請求項5に記載の発明によれば、表面プラズモン共鳴の共鳴波長が長波長側にシフトすると、互いに近接して存在するようになった金の微粒子により、センサーの色が赤色から青紫色に変化するので、肉眼によっても第1の物質と第2の物質との反応の様子を容易に確認することができる。

【0033】また、本発明のうち請求項6に記載の発明は、請求項1、請求項2、請求項3、請求項4または請求項5のいずれか1項に記載の発明において、上記第1の物質と上記第2の物質とは、互いに高い選択性で結合する物質であるようにしたものである。

【0034】従って、本発明のうち請求項6に記載の発明によれば、互いに高い選択性で第1の物質と第2の物質とが結合すると、第1の金属微粒子と第2の金属微粒子との金属微粒子同士の間隔が所定の間隔より短くなり、表面プラズモン共鳴の共鳴波長が長波長側にシフトするので、第1の物質と第2の物質との反応をリアルタイムで検出することができる。

【0035】また、本発明のうち請求項7に記載の発明

は、請求項6に記載の発明において、上記第1の物質は抗体と抗原とのいずれか一方であり、上記第2の物質は抗体と抗原とのいずれか他方であるようにしたものである。

【0036】従って、本発明のうち請求項7に記載の発明によれば、抗原と抗体の抗原抗体反応をリアルタイムで検出することができる。

【0037】また、本発明のうち請求項8に記載の発明は、請求項1、請求項2、請求項3、請求項4、請求項5、請求項6または請求項7のいずれか1項に記載の発明を用いた物質の反応の検出方法において、上記第1の物質と上記第2の物質とが反応して結合するときに、上記第1の金属微粒子と上記第2の金属微粒子との間の距離の変化により生ずる相互作用の影響を受けた表面プラズモン共鳴の共鳴波長のシフトを検出し、該検出された表面プラズモン共鳴の共鳴波長のシフトに基づいて第1の物質と第2の物質との反応を検出するようにしたものである。

【0038】従って、本発明のうち請求項8に記載の発明によれば、例えば、吸収スペクトルを測定することなどにより、表面プラズモン共鳴の共鳴波長のシフトを検出して、該検出された表面プラズモン共鳴の共鳴波長のシフトに基づいて第1の物質と第2の物質との反応を検出することができる。

【0039】

【発明の実施の形態】以下、添付の図面を参照しながら、本発明によるセンサーおよびそれを用いた物質の反応の検出方法の実施の形態の一例を詳細に説明する。

【0040】なお、以下に説明する実施の形態においては、本発明によるセンサーを用いて抗原抗体反応を検出する場合について説明することとする。

【0041】図2には、本発明によるセンサーの実施の形態の一例の概念構成説明図が示されている。

【0042】即ち、センサー10は、基板12と、基板12の表面12aに配設された金属微粒子14と、金属微粒子14に結合された抗原114とを有して構成されているものである。

【0043】ここで、基板12は板状体であって、例えば、ガラスにより形成され、透明である。

【0044】一方、金属微粒子14は、例えば、金の微粒子であり、金属微粒子14の表面には抗原114が結合している。そして、金属微粒子14はそれぞれ、互いに相互作用を生じない所定の間隔G（図2参照）を開けて離れた状態で、基板12の表面12aに配設されている。

【0045】従って、基板12が透明で金属微粒子14が金の微粒子なので、孤立金属微粒子による表面プラズモン共鳴（共鳴ピークは波長520nm付近である。）により、センサー10の色は赤色となる。

【0046】なお、図2に示すように、所定の間隔Gは

一定である必要はなく、最小間隔を $G_1$ とするならば、所定の間隔 $G$ は最小間隔 $G_1$ 以上であればよい。また、所定の間隔 $G$ は、金属微粒子14ならびに後述する金属微粒子18の金属の種類や、あるいは金属微粒子の粒径に応じて変化するものである。

【0047】ここで、基板12の表面12aに、所定の間隔 $G$ を開けて離れた状態で金属微粒子14を配設するには、例えば、以下に示す手法を用いることができる。

【0048】即ち、よく洗浄した基板12たるスライドガラスに厚さ6nmの金薄膜を真空蒸着する。さらに、この金薄膜を空气中において300℃で4時間加熱してアニーリングを行う。

【0049】これにより、基板12の表面12aには、金属微粒子14が互いに所定の間隔 $G$ を開けて離れた状態で高密度に配設された島状金薄膜が形成される。この島状金薄膜は、薄赤色を呈している。

【0050】以上の構成において、図3を参照しながら、上記したセンサー10を用いて抗原抗体反応を検出する際の動作について説明を行うものとする。

【0051】まず、金属微粒子18が液体中に存在するようにした懸濁液100を作製する。この懸濁液100中の金属微粒子18は、例えば、金の微粒子であり、金属微粒子18の表面には抗体118が結合されており、金属微粒子18同士は、所定の間隔 $G$ を開けるようにして、互いに孤立して浮遊している。

【0052】そして、作製された懸濁液100を、センサー10の基板12の表面12a上に滴下する(図3(a)参照)。

【0053】ここで、センサー10の外部より供給された懸濁液100中の金属微粒子18の表面に結合している抗体118と、センサー10の基板12の表面12aに配設された金属微粒子14の表面に結合している抗原114との間で、抗原抗体反応が起きなければ、抗体118が抗原114とは結合しない(図3(a)参照)。

【0054】従って、基板12の金属微粒子14同士は所定の間隔 $G$ を開けて離れた状態で配設されており、また、金属微粒子14と金属微粒子18との間ならびに金属微粒子18同士の間にも所定の間隔 $G$ が存在するので、センサー10の色は赤色のまま変化しない。

【0055】一方、センサー10の外部より供給された懸濁液100中の金属微粒子18の表面に結合している抗体118と、センサー10の基板12の表面12aに配設された金属微粒子14の表面に結合している抗原114との間で、抗原抗体反応が起きると、抗体118が抗原114と結合する(図3(b)参照)。

【0056】この抗体118と抗原114との結合により、抗原114と抗体118とを介して金属微粒子14と金属微粒子18とが結合して、懸濁液100中の金属微粒子18とセンサー10の金属微粒子14との間の距離が所定の間隔 $G$ より短くなる。その結果、表面プラズ

モン共鳴の共鳴波長が長波長側にシフトし(図1参照)、互いに近接して存在する金の微粒子により、センサー10の色が赤色から青紫色に変化する。

【0057】ここで、具体的に、抗原114と抗体118とに代えて、アミノエタンチオールを用いた場合を例にして、より詳細に説明することとする。なお、アミノエタンチオールは、アミノ基とメルカプト基を介して金の微粒子同士を結合するものである。

【0058】まず、表面に抗原114が配設されていない金属微粒子14として金微粒子が配設された基板12を、アミノエタンチオールの10mMエタノール溶液に1時間浸けた後に、純水でよく洗浄する。この処理により、基板12の金微粒子の表面に、アミノエタンチオールの単分子膜が形成される。そして、当該アミノエタンチオールの単分子膜の表面には、アミノ基が現れている。

【0059】また、金属微粒子18として平均粒径13nmの金微粒子を含み、金微粒子同士は、所定の間隔 $G$ を開けるように、互いに孤立して遊離している懸濁液を作製する。

【0060】ここで、図4には、上記したようにしてアミノエタンチオールの単分子膜が形成された金微粒子が配設された基板12の吸収スペクトルと、平均粒径13nmの金微粒子を含む懸濁液の吸収スペクトルとが示されており、いずれの吸収スペクトルも波長520nm付近に吸収ピークが見られる。

【0061】この波長520nm付近の吸収ピークは、所定の間隔 $G$ を有して基板12の表面12aに配設されている金微粒子の孤立金属微粒子による表面プラズモン共鳴による吸収を示し、所定の間隔 $G$ を有している懸濁液中の金微粒子の孤立金属微粒子による表面プラズモン共鳴による吸収を示している。

【0062】そして、この基板12を用いて液体セルを作製し、作製された液体セルに上記した金微粒子を含む懸濁液を満たす。図5には、液体セルに懸濁液を満たした後の吸収スペクトルの時間変化を示すグラフが示されている。

【0063】図5に示すように、懸濁液を液体セルに満たした直後の吸収スペクトルは、基板12の吸収スペクトルと懸濁液の吸収スペクトルの和となっている。しかし、時間が経過するのに伴って、波長700nm付近の吸収が増大して、ピークを形成していくことがわかる。

【0064】この波長700nm付近の吸収ピークが、基板12に配設された金微粒子と懸濁液中の金微粒子との近接金属微粒子による表面プラズモン共鳴を現している。

【0065】つまり、懸濁液中の金微粒子がアミノエタンチオールを介して、基板12の表面12aに配設された金微粒子と結合することにより、懸濁液中の金微粒子とセンサー10の金微粒子との間の距離が所定の間隔 $G$

よりも短くなる。その結果、表面プラズモン共鳴の共鳴波長が長波長側にシフトして、センサー10の色が赤色から青紫色に変化する。

【0066】上記したように、本発明によるセンサー10においては、表面に抗原114が結合された金属微粒子14を、基板12の表面に相互作用を生じない所定の間隔Gを開けて離隔した状態で配設するようにしたため、センサー10の外部から供給された懸濁液100中の金属微粒子18の表面に結合している抗体118と抗原114とが抗原抗体反応を起こして結合すると、懸濁液100中の金属微粒子18とセンサー10の金属微粒子14との間の距離が所定の間隔Gより短くなり、表面プラズモン共鳴の共鳴波長が長波長側にシフトする。

【0067】その結果、センサー10の色は赤色から青紫色に変化するので、抗原抗体反応が生じていることを視覚により検出することができる。即ち、こうした抗原抗体反応が起こった場合には、センサー10の色が赤色から青紫色に変化するので、肉眼によっても抗原抗体反応の様子を容易に確認できるとともに、「従来の技術」の項において示した蛍光分子で標識された抗体を用いた抗原抗体反応の検出には欠かせないレーザー光源が必要ないので、抗原抗体反応を安価に検出することができる。

【0068】また、抗体118が抗原114と結合せずに所定の間隔Gを開けて懸濁液100中に漂って存在している金属微粒子18は、抗原抗体反応に伴うセンサー10の色の変化には寄与しないので、基板12から懸濁液100を洗い流す必要はなく、抗体118と抗原114との抗原抗体反応をリアルタイムで検出することができる。

【0069】さらに、本発明によるセンサー10においては、抗体118と抗原114との反応により、互いの間の距離が変化する金属微粒子14と金属微粒子18とのうちの一方の金属微粒子14を基板12の表面12aに配設するようにしたので、取り扱いが非常に簡単になり、さらに、アレー化が可能になり、必要な試料の量を低減することができ、既存のフラットベツタイプのスキャナーなどを使用することもできるようになる。

【0070】例えば、基板12の所定エリア毎に、金属微粒子14の表面に異なる種類の抗原114を結合することで、センサーの2次元アレー化を容易に実現することができる。

【0071】また、本発明によるセンサー10はDNAチップやタンパクチップへの応用も容易であり、研究分野や医療分野などにおいて、即時的な反応をリアルタイムで検出するのに用いることができる。

【0072】さらにまた、本発明によるセンサー10の基板12は透明なので、吸収スペクトルの変化を容易に観察することができ(図5参照)、表面プラズモン共鳴の共鳴波長の長波長側へのシフトを検出して各種反応を

検出することができる。

【0073】そして、本発明によるセンサー10においては、金属微粒子14ならびに金属微粒子18を用いるようにしたため、金属微粒子の吸収断面積が大きいので、抗原抗体反応の検出を高感度に行うことができる。

【0074】また、本発明によるセンサー10においては、金属微粒子14ならびに金属微粒子18としていずれも金の微粒子を用いるようにすると、金は安定した物質であるので金属微粒子14ならびに金属微粒子18の取り扱いが容易になる。

【0075】なお、上記した実施の形態は、以下の(1)乃至(5)に説明するように変形することができる。

【0076】(1)上記した実施の形態においては、金属微粒子14ならびに金属微粒子18として金の微粒子を用いたが、これに限られるものではないことは勿論であり、銀やその他の金属微粒子を用いることができる。例えば、金属微粒子14ならびに金属微粒子18として銀の微粒子を用いた場合には、より一層感度のよい検出を行うことができる。

【0077】(2)上記した実施の形態においては、センサー10の基板12はガラスにより形成されるようにしたが、これに限られるものではないことは勿論であり、ガラス以外の誘電体や金属または半導体などの任意の材料の基板を用いることができる。

【0078】また、基板12は板状体であるようにしたが、基板12は曲面形状を含む任意の形状に形成するようにしてもよい。

【0079】(3)金属微粒子14の表面に抗原114を結合し、金属微粒子18の表面に抗体118を結合するようにしたが、これに限られるものではないことは勿論であり、金属微粒子14の表面に抗体118を結合し、金属微粒子18の表面に抗原114を結合するようにしてもよい。

【0080】さらに、上記した実施の形態においては、本発明によるセンサー10を用いて抗原抗体反応を検出するものとして説明したが、これに限られるものではないことは勿論であり、各種反応の検出にセンサー10を用いてもよい。

【0081】例えば、本発明によるセンサー10を用いてハイブリダイゼーションを検出する場合には、基板12に配設された金属微粒子14の表面に結合された抗原114ならびに懸濁液100中の金属微粒子18の表面に結合された抗体118に代え、それぞれシングルスランドのDNAやRNAなどを結合するようにすればよい。

【0082】つまり、本発明によるセンサー10を用いると、抗原や抗体などのタンパク質や核酸など、特定の物質に対して互いに高い選択性を有する性質の物質をそれぞれ、金属微粒子14や金属微粒子18に結合するこ

とにより、金属微粒子14や金属微粒子18に結合された物質の高い選択性に基づいた各種反応を検出することができる。

【0083】(4) 上記した実施の形態においては、センサー10の吸収スペクトルを測定するようにしたが(図4参照)、これに限られるものではないことは勿論であり、例えば、反射スペクトルや透過スペクトルなどを測定するようにしてもよく、要は、金属微粒子同士の間の距離の変化に伴う表面プラズモン共鳴の共鳴波長のシフトを検出するようにすればよい。

【0084】(5) 上記した実施の形態ならびに上記(1)乃至(4)に示す変形例は、適宜に組み合わせるようにしてもよい。

【0085】

【発明の効果】本発明は、以上説明したように構成されているので、抗原抗体反応などの各種物質の反応をリアルタイムで検出することを可能にしたセンサーおよびそれを用いた物質の反応の検出方法を提供することができるという優れた効果を奏する。

【0086】また、本発明は、以上説明したように構成されているので、抗原抗体反応などの各種物質の反応を検出する際に、安価に検出することを可能にしたセンサーおよびそれを用いた物質の反応の検出方法を提供しよ

うとすることができるという優れた効果を奏する。

【図面の簡単な説明】

【図1】粒径20nmの金の微粒子同士の間隔と表面プラズモン共鳴の共鳴波長との関係を示すグラフである。

【図2】本発明によるセンサーの実施の形態の一例を示す概念構成説明図である。

【図3】本発明によるセンサーを用いて抗原抗体反応を検出する際の動作を示す説明図であり、(a)は抗体が抗原と結合しない場合を示す説明図であり、(b)は抗体が抗原と結合する場合を示す説明図である。

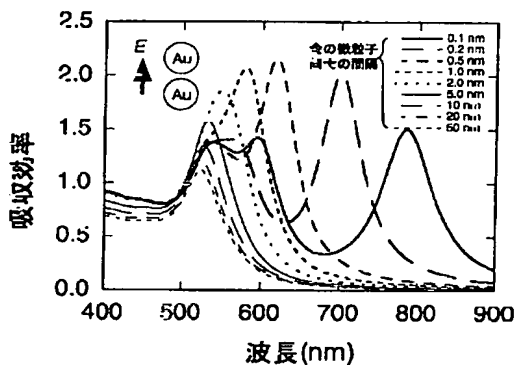
【図4】本発明によるセンサーの吸収スペクトルを示すグラフである。

【図5】本発明によるセンサーを用いた液体セルに懸濁液を満たした後の吸収スペクトルの時間変化を示すグラフである。

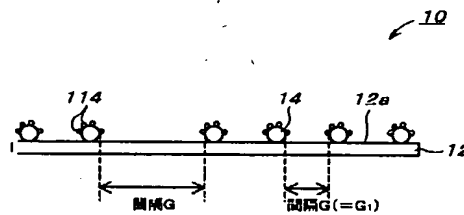
【符号の説明】

10	センサー
12	基板
12a	表面
14, 18	金属微粒子
100	懸濁液
114	抗原
118	抗体

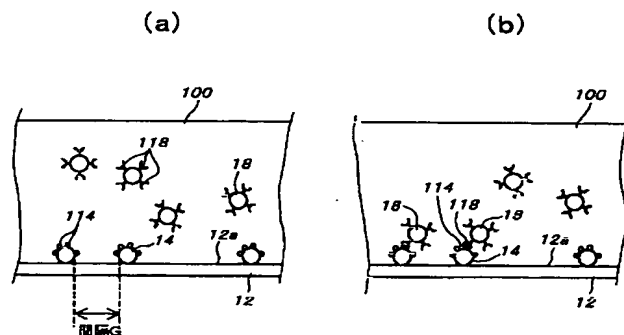
【図1】



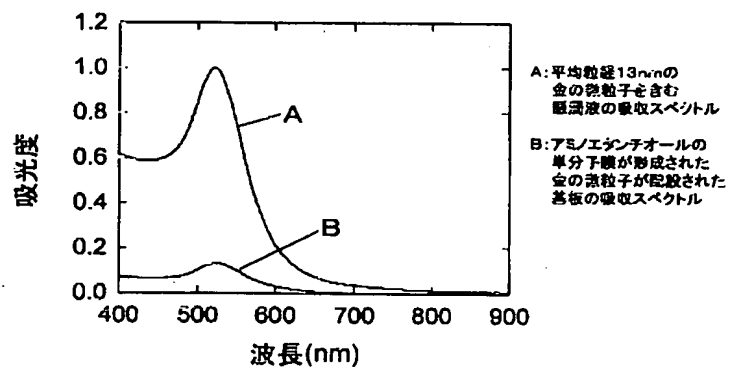
【図2】



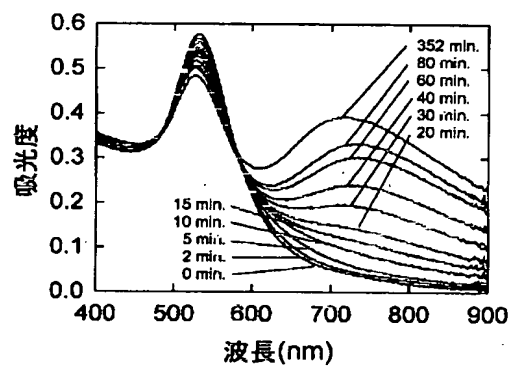
【図3】



【図4】



【図5】



フロントページの続き

Fターム(参考) 2G059 BB12 CC16 DD01 DD13 EE01  
EE12 EE13 HH02 HH06 KK04  
KK07



# PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2003-014765

(43)Date of publication of application : 15.01.2003

(51)Int.Cl.

G01N 33/553

G01N 21/27

G01N 33/543

(21)Application number : 2001-200854

(71)Applicant : INST OF PHYSICAL & CHEMICAL  
RES

(22)Date of filing : 02.07.2001

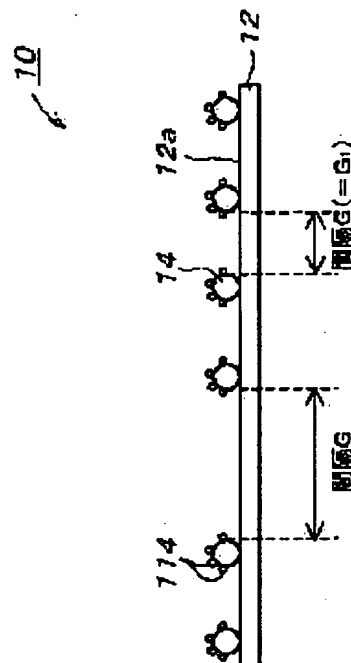
(72)Inventor : OKAMOTO TAKAYUKI  
YAMAGUCHI ICHIRO

(54) SENSOR AND METHOD FOR DETECTING REACTION OF SUBSTANCE USING THE SAME

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To detect in real time a reaction of various substances such as antigen-antibody reaction or the like.

SOLUTION: A sensor to be used for detecting a reaction of a first substance on a second substance has a substrate; first metal fine particles arranged respectively having a gap which does not mutually produce an interaction on the substrate; and a first substance coupled to the first metal fine particles. When second metal fine particles coupled to a second substance are supplied to the substrate, the first substance reacts on the second substance to couple to each other, with the result that the first metal fine particles are coupled to the second metal fine particles via the first substance and the second substance, to approach so that the first metal fine particles and the second metal fine particles produce mutually an interaction.



## CLAIMS

---

### [Claim(s)]

[Claim 1] It is the sensor used in order to detect the reaction of the 1st matter and the 2nd matter. A substrate, The 1st metal particle which opened spacing which does not produce an interaction mutually and was arranged on said substrate, respectively, By having the 1st matter combined with said 1st metal particle, and said the 1st matter's and said 2nd matter's reacting, and joining together, if the 2nd metal particle which combined the 2nd matter is supplied to said substrate The sensor which approaches so that said 1st metal particle and said 2nd metal particle may join together through said the 1st matter and said 2nd matter and said 1st metal particle and said 2nd metal particle may produce an interaction mutually.

[Claim 2] Setting in a sensor according to claim 1, said substrate is a transparent sensor.

[Claim 3] It is the sensor arranged on said substrate by said 1st metal particle's carrying out predetermined time heating of said substrate in which the metal membrane used as the raw material of said 1st metal particle was formed on the front face, at predetermined temperature in a sensor given in any 1 term of claim 1 or claim 2, and carrying out annealing.

[Claim 4] It is the sensor which is what is supplied to said substrate after said 2nd metal particle has existed in a liquid in a sensor given in any 1 term of claim 1, claim 2, or claim 3.

[Claim 5] It is the sensor whose metal particle of said 1st metal particle row above 2nd is a golden particle in a sensor given in any 1 term of claim 1, claim 2, claim 3, or claim 4.

[Claim 6] It is the sensor which is the matter which combines said the 1st matter and said 2nd matter of each other by high selectivity in a sensor given in any 1 term of claim 1, claim 2, claim 3, claim 4, or claim 5.

[Claim 7] In a sensor according to claim 6, said 1st matter is either of an antibody and an antigen, and said 2nd matter is a sensor of an antibody and an antigen which is another side either.

[Claim 8] In the detection approach of the reaction of the matter using a sensor given in any 1 term of claim 1, claim 2, claim 3, claim 4, claim 5, claim 6, or claim 7 When said the 1st matter and said 2nd matter react and join together, the shift of the resonance wavelength of the surface plasmon resonance influenced of the interaction produced by change of the distance between said 1st metal particle and said 2nd metal particle is detected. The detection approach of the reaction of the matter using the sensor which is what detects the reaction of the 1st matter and the 2nd matter based on the shift of the resonance wavelength of the detected this surface plasmon resonance.

## DETAILED DESCRIPTION

---

### [Detailed Description of the Invention]

[0001]

[Field of the Invention] This invention is further used for a detail about the detection approach of the reaction of the matter of having used a sensor and it, as the so-called biosensor at the time of detecting the reaction of various matter, for example, an antigen-antibody reaction etc., and relates to the detection approach of the reaction of the matter using a suitable sensor and suitable it.

[0002]

[Description of the Prior Art] Conventionally, the antibody by which the indicator was carried out by the fluorescence molecule is used for detection of the reaction of various matter, for example, an antigen-antibody reaction.

[0003] By the way, the fluorescence molecule which carries out the indicator of such an antibody emits the same fluorescence, whether an antibody exists, without combining with an antigen or an antibody combines with an antigen by the antigen-antibody reaction.

[0004] For this reason, when the antibody by which the indicator was carried out by the fluorescence molecule was used, the antibody which exists without combining with an antigen needed to be removed by washing processing, and the antigen-antibody reaction needed to be detected by measuring luminescence of a fluorescence molecule after that.

[0005] That is, since it was indispensable to detection of the antigen-antibody reaction using the antibody by which the indicator was carried out by the fluorescence molecule to perform washing processing which was described above, there was a trouble that an antigen-antibody reaction was undetectable on real time.

[0006] Moreover, since laser needed to be used as the light source, there was a trouble that the equipment which detects an antigen-antibody reaction will become expensive in measurement of luminescence of the fluorescence molecule which carries out the indicator of the antibody.

[0007]

[Problem(s) to be Solved by the Invention] The place which this invention is made in view of the various troubles which a Prior art which was described above has, and is made into the purpose tends to offer the detection approach of the reaction of the matter using the sensor and it which made it possible to detect the reaction of various matter, such as an antigen-antibody reaction, on real time.

[0008] Moreover, the place made into the purpose of this invention tends to offer the detection approach of the reaction of the matter using the sensor and it which made it possible to detect cheaply, in case the reaction of various matter, such as an antigen-antibody reaction, is detected.

[0009]

[Means for Solving the Problem] In order to attain the above-mentioned purpose, this invention uses the shift of the resonance wavelength of the surface plasmon resonance influenced of the interaction of metal particles produced by change of spacing of metal particles, i.e., the distance between a metal particle and a metal particle.

[0010] More, in a detail, if this incident light is irradiated, in a certain wavelength, very strong absorption will arise at metal particles, such as gold with a particle size smaller enough than the wavelength of incident light, and silver. This is for the free electron in a metal particle to vibrate in resonance to the electric field of incident light, and this phenomenon is called surface plasmon resonance.

[0011] Here, a golden particle is taken for an example as a metal particle, and surface plasmon resonance is explained.

[0012] First, when a golden particle isolates and exists (i.e., when golden particles open spacing which does not produce an interaction mutually, they are isolated and exist), this surface plasmon resonance occurs near the wavelength of 520nm. Consequently, a green light is absorbed and a golden particle presents red.

[0013] In addition, suppose that "surface plasmon resonance in case metal particles open

spacing which does not produce an interaction mutually, they are isolated and exist" is suitably called "the surface plasmon resonance by the isolated metal particle" in this specification. Moreover, suppose that "spacing which metal particles do not make produce an interaction mutually" is suitably called "the predetermined spacing G."

[0014] And the predetermined spacing G which does not produce an interaction mutually is opened, the metal particles which are isolated, respectively and exist approach, the distance between a metal particle and a metal particle becomes shorter than the predetermined spacing G, and if incident light is irradiated in the condition that metal particles produce an interaction mutually, induction of the electric dipole will be carried out to each of two metal particles.

[0015] Under the present circumstances, when the polarization direction of incident light is parallel to the shaft to which two metal particles are connected, these two dipoles will cause a strong interaction. Consequently, multipole children, such as not only a dipole but a quadrupole child and an octupole child, are excited by the metal particle. The resonance wavelength of surface plasmon resonance is shifted to a long wavelength side by this multipole child.

[0016] In addition, suppose that "the surface plasmon resonance which spacing of metal particles became short compared with the predetermined spacing G, and was influenced by the interaction of a metal particle" is suitably called "the surface plasmon resonance by the contiguity metal particle" in this specification.

[0017] Here, the graph which shows the relation between spacing of the particles of gold with a particle size of 20nm and the resonance wavelength of surface plasmon resonance is shown in drawing 1.

[0018] As described above, when the predetermined spacing G is opened mutually, it is isolated and it exists, in the case of a golden particle, the surface plasmon resonance by the isolated metal particle occurs near the wavelength of 520nm, and red presents it.

[0019] Concretely, when spacing of golden particles is about 50nm (= predetermined spacing G), the resonance peak by the surface plasmon resonance of an isolated metal particle appears in the case of the particles of gold with a particle size of 20nm shown in drawing 1 near the wavelength of 520nm. Therefore, when spacing of golden particles is about 50nm, the golden particle is presenting red.

[0020] And in connection with spacing of golden particles becoming shorter than 50nm, the resonance wavelength of surface plasmon resonance is gradually shifted to a long wavelength side, for example, when spacing of golden particles is about 0.2nm, the resonance peak by the surface plasmon resonance of a contiguity metal particle appears near the wavelength of 700nm. Under the present circumstances, the color which a golden particle presents changes from red, and a golden particle comes to present a purple-blue color.

[0021] Moreover, as shown in drawing 1, compared with the case where spacing of golden particles is about 50nm, 20nm, and 10nm, as for the degree which a resonance wavelength shifts from near the wavelength of 520nm of the resonance peak by the surface plasmon resonance of an isolated metal particle, the direction in case spacing of golden particles is about 0.5nm, 0.2nm, and 0.1nm is large. That is, the degree which the resonance wavelength of surface plasmon resonance shifts becomes so large that the distance between a metal particle and a metal particle is small to the particle size of a metal particle.

[0022] In a viewpoint which was described above among this inventions invention according to claim 1 It is the sensor used in order to detect the reaction of the 1st matter and the 2nd matter. A substrate, The 1st metal particle which opened spacing which does not produce an interaction mutually and was arranged on the above-mentioned substrate, respectively, By having the 1st matter combined with the metal particle of the above 1st, and the 1st matter of the above and the 2nd matter of the above reacting, and joining together, if the 2nd metal particle which combined the 2nd matter is supplied to the above-mentioned substrate The metal particle of the above 1st and the metal particle of the above 2nd join together through the 1st matter of the above, and the 2nd matter of the above, and it is made to approach so that the metal particle of the above 1st and the metal particle of the above 2nd may produce an interaction mutually.

[0023] Therefore, the 1st matter which was combined with the 1st metal particle arranged by the

substrate among this inventions according to invention according to claim 1, If the matter of the 2nd \*\* combined with the 2nd metal particle reacts and joins together The 1st metal particle and the 2nd metal particle join together through the 1st matter and 2nd matter, and it approaches so that the 1st metal particle and the 2nd metal particle may produce an interaction mutually. Since the resonance wavelength of surface plasmon resonance shifts to a long wavelength side, the reaction of the 1st matter and the 2nd matter can be detected on real time.

[0024] Moreover, since the laser light source indispensable to detection of the antigen-antibody reaction using the antibody by which the indicator was carried out by the fluorescence molecule shown in the term of a "Prior art" is also unnecessary, the reaction of the 1st matter and the 2nd matter can be detected cheaply.

[0025] Moreover, in invention according to claim 1, the above-mentioned substrate carries out invention according to claim 2 as [ transparently ] among this inventions.

[0026] Therefore, since the substrate of a sensor is transparence among this inventions according to invention according to claim 2, change of an absorption spectrum etc. can be observed easily, the shift by the side of the long wavelength of the resonance wavelength of surface plasmon resonance can be detected, and various reactions can be detected.

[0027] Moreover, in invention given in any 1 term of claim 1 or claim 2, the metal particle of the above 1st may be made to be arranged on the above-mentioned substrate by carrying out predetermined time heating and carrying out annealing of the above-mentioned substrate in which the metal membrane used as the raw material of the metal particle of the above 1st was formed on the front face, at predetermined temperature, like invention according to claim 3 among this inventions.

[0028] If it does in this way, where spacing which does not produce an interaction for the 1st metal particle mutually on the surface of a substrate is opened and left, moreover, it can arrange in high density.

[0029] Moreover, among this inventions, the metal particle of the above 2nd is supplied to the above-mentioned substrate, after invention according to claim 4 has existed in a liquid in invention given in any 1 term of claim 1, claim 2, or claim 3.

[0030] Therefore, according to invention according to claim 4, the 2nd metal particle is supplied from the outside in the condition of having existed in the liquid, among this inventions, but The 2nd metal particle which exists in a liquid, without the 2nd matter combining with the 1st matter Since it does not contribute to the shift by the side of the long wavelength of the resonance wavelength of surface plasmon resonance, it is not necessary to flush the liquid containing the 2nd metal particle, and the reaction of the 1st matter and the 2nd matter can be detected on real time.

[0031] Moreover, it is made for the metal particle of the metal particle row above 2nd of the above 1st of invention according to claim 5 to be a golden particle in invention given in any 1 term of claim 1, claim 2, claim 3, or claim 4 among this inventions.

[0032] Therefore, if the resonance wavelength of surface plasmon resonance shifts to a long wavelength side, since the color of a sensor will change with the particles of the gold which approaches mutually and came to exist from red to a purple-blue color among this inventions according to invention according to claim 5, the situation of the reaction of the 1st matter and the 2nd matter can be easily checked also with a naked eye.

[0033] Moreover, it is made for the 1st matter of the above and the 2nd matter of the above of invention according to claim 6 to be matter each other combined by high selectivity in invention given in any 1 term of claim 1, claim 2, claim 3, claim 4, or claim 5 among this inventions.

[0034] Therefore, if the 1st matter and 2nd matter join together by high selectivity mutually among this inventions according to invention according to claim 6 Since the distance between the metal particles of the 1st metal particle and the 2nd metal particle becomes shorter than predetermined spacing and the resonance wavelength of surface plasmon resonance shifts to a long wavelength side, the reaction of the 1st matter and the 2nd matter is detectable on real time.

[0035] Moreover, in invention according to claim 6, the 1st matter of the above of invention according to claim 7 is either of an antibody and an antigen among this inventions, and it is made

for the 2nd matter of the above to be another side either as an antibody and an antigen.

[0036] Therefore, according to invention according to claim 7, the antigen-antibody reaction of an antigen and an antibody is detectable on real time among this inventions.

[0037] Among this inventions, moreover, invention according to claim 8 In the detection approach of the reaction of the matter using invention given in any 1 term of claim 1, claim 2, claim 3, claim 4, claim 5, claim 6, or claim 7 When the 1st matter of the above and the 2nd matter of the above react and join together, the shift of the resonance wavelength of the surface plasmon resonance influenced of the interaction produced by change of the distance between the metal particle of the above 1st and the metal particle of the above 2nd is detected. The reaction of the 1st matter and the 2nd matter is detected based on the shift of the resonance wavelength of the detected this surface plasmon resonance.

[0038] Therefore, among this inventions, for example by measuring an absorption spectrum etc., the shift of the resonance wavelength of surface plasmon resonance can be detected, and, according to invention according to claim 8, the reaction of the 1st matter and the 2nd matter can be detected based on the shift of the resonance wavelength of the this detected surface plasmon resonance.

[0039]

[Embodiment of the Invention] Hereafter, an example of the gestalt of implementation of the detection approach of the reaction of the matter using the sensor and it by this invention is explained to a detail, referring to an attached drawing.

[0040] In addition, suppose that the case where an antigen-antibody reaction is detected using the sensor by this invention is explained in the gestalt of the operation explained below.

[0041] The conceptual configuration explanatory view of an example of the gestalt of operation of the sensor by this invention is shown in drawing 2 .

[0042] That is, a sensor 10 has a substrate 12, the metal particle 14 arranged in surface 12a of a substrate 12, and the antigen 114 combined with the metal particle 14, and is constituted.

[0043] Here, a substrate 12 is a plate, for example, is formed with glass, and is transparent.

[0044] On the other hand, the metal particle 14 is a golden particle and the antigen 114 has combined it with the front face of the metal particle 14. And the metal particle 14 is in the condition which opened and left the predetermined spacing G (refer to drawing 2 ) which does not produce an interaction mutually, respectively, and is arranged in surface 12a of a substrate 12.

[0045] Therefore, a substrate 12 is transparent, and since the metal particle 14 is a golden particle, the color of a sensor 10 turns into red by surface plasmon resonance (a resonance peak is near the wavelength of 520nm.) by the isolated metal particle.

[0046] In addition, if the predetermined spacing G does not need to be fixed and a minimum interval is set to G1 as shown in drawing 2 , the predetermined spacing G should just be more than minimum interval G1. moreover, the predetermined spacing G -- the class of metal of the metal particle 14 and the metal particle 18 mentioned later -- or it changes according to the particle size of a metal particle.

[0047] Here, where the predetermined spacing G is opened and left to surface 12a of a substrate 12, in order to arrange the metal particle 14, the technique shown below can be used.

[0048] That is, vacuum deposition of the golden thin film with a thickness of 6nm is carried out to the often washed 12 casks of substrates slide glass. Furthermore, this golden thin film is heated at 300 degrees C in air for 4 hours, and annealing is performed.

[0049] Thereby, the island-shape golden thin film arranged by high density after the metal particle 14 had opened and left the predetermined spacing G mutually is formed in surface 12a of a substrate 12. This island-shape golden thin film is presenting thin red.

[0050] In the above configuration, while referring to drawing 3 , actuation at the time of detecting an antigen-antibody reaction using the above-mentioned sensor 10 shall be explained.

[0051] First, the metal particle 18 produces the suspension 100 it was made to exist in a liquid. It is a golden particle, the antibody 118 is combined with the front face of the metal particle 18, and as metal particle 18 comrades open the predetermined spacing G, the metal particle 18 in this suspension 100 is isolated mutually, and is floating.

[0052] And the produced suspension 100 is dropped on surface 12a of the substrate 12 of a sensor 10 (refer to drawing 3 (a)).

[0053] Here, between the antigens 114 combined with the front face of the metal particle 14 arranged in surface 12a of the antibody 118 combined with the front face of the metal particle 18 in the suspension 100 supplied from the exterior of a sensor 10, and the substrate 12 of a sensor 10, if an antigen-antibody reaction does not occur, an antibody 118 does not combine an antigen 114 (refer to drawing 3 (a)).

[0054] Therefore, since metal particle 14 comrades of a substrate 12 are arranged where the predetermined spacing G is opened and left, and the predetermined spacing G exists also between the metal particle 14 and the metal particle 18 and between metal particle 18 comrades, the color of a sensor 10 does not change with red.

[0055] Between the antigens 114 combined with the front face of the metal particle 14 arranged in surface 12a of the antibody 118 combined with the front face of the metal particle 18 in the suspension 100 supplied from the exterior of a sensor 10 on the other hand, and the substrate 12 of a sensor 10, if an antigen-antibody reaction occurs, an antibody 118 will combine with an antigen 114 (refer to drawing 3 (b)).

[0056] By association with this antibody 118 and antigen 114, the metal particle 14 and the metal particle 18 join together through an antigen 114 and an antibody 118, and the distance between the metal particle 18 in suspension 100 and the metal particle 14 of a sensor 10 becomes shorter than the predetermined spacing G. Consequently, the resonance wavelength of surface plasmon resonance shifts to a long wavelength side (refer to drawing 1), and the color of a sensor 10 changes with the particles of the gold which approaches mutually and exists from red to a purple-blue color.

[0057] Here, concretely, it replaces with an antigen 114 and an antibody 118, and the case where an aminoethane thiol is used is made into an example, and suppose that it explains to a detail more. In addition, an aminoethane thiol combines golden particles through the amino group and a sulfhydryl group.

[0058] First, after soaking the substrate 12 with which the golden particle was arranged as a metal particle 14 by which the antigen 114 is not arranged in the front face in 10mM ethanol solution of an aminoethane thiol for 1 hour, pure water often washes it. The monomolecular film of an aminoethane thiol is formed in the front face of the golden particle of a substrate 12 of this processing. And the amino group has appeared in the front face of the monomolecular film of the aminoethane thiol concerned.

[0059] Moreover, as a metal particle 18, including a golden particle with a mean particle diameter of 13nm, golden particles produce the suspension which was isolated mutually and has separated so that the predetermined spacing G may be opened.

[0060] Here, the absorption spectrum of the substrate 12 with which the golden particle by which the monomolecular film of an aminoethane thiol was formed in it as was described above to drawing 4 was arranged, and the absorption spectrum of the suspension containing a golden particle with a mean particle diameter of 13nm are shown, and an absorption peak is seen for any absorption spectrum near the wavelength of 520nm.

[0061] The absorption peak near this wavelength of 520nm shows absorption by the surface plasmon resonance by the isolated metal particle of the golden particle which has the predetermined spacing G and is arranged in surface 12a of a substrate 12, and shows absorption by the surface plasmon resonance by the isolated metal particle of the golden particle in the suspension which has the predetermined spacing G.

[0062] And the suspension containing the golden particle which produced the liquid cel and described it above in the produced liquid cel is filled using this substrate 12. The graph which shows time amount change of the absorption spectrum after filling suspension in a liquid cel is shown in drawing 5.

[0063] As shown in drawing 5, the absorption spectrum immediately after filling suspension in a liquid cel serves as the sum of the absorption spectrum of a substrate 12, and the absorption spectrum of suspension. However, it turns out that absorption near the wavelength of 700nm increases and a peak is formed in connection with time amount passing.

[0064] The absorption peak near this wavelength of 700nm expresses the surface plasmon resonance by the contiguity metal particle of the golden particle arranged by the substrate 12 and the golden particle in suspension.

[0065] That is, the distance between the golden particle in suspension and the golden particle of a sensor 10 becomes shorter than the predetermined spacing G by combining with the golden particle by which the golden particle in suspension was arranged in surface 12a of a substrate 12 through the aminoethane thiol. Consequently, the resonance wavelength of surface plasmon resonance shifts to a long wavelength side, and the color of a sensor 10 changes from red to a purple-blue color.

[0066] In the sensor 10 according to this invention as described above Since it was made to arrange in the condition of having opened the predetermined spacing G which does not produce an interaction for the metal particle 14 by which the antigen 114 was combined with the front face on the front face of a substrate 12, and having been isolated, If the antibody 118 and antigen 114 which have been combined with the front face of the metal particle 18 in the supplied suspension 100 cause an antigen-antibody reaction and join together from the outside of a sensor 10 The distance between the metal particle 18 in suspension 100 and the metal particle 14 of a sensor 10 becomes shorter than the predetermined spacing G, and the resonance wavelength of surface plasmon resonance shifts to a long wavelength side.

[0067] Consequently, since the color of a sensor 10 changes from red to a purple-blue color, it is detectable that the antigen-antibody reaction has arisen with vision. That is, since the laser light source indispensable to detection of the antigen-antibody reaction using the antibody by which the indicator was carried out by the fluorescence molecule shown in the term of a "Prior art" is unnecessary while being able to check the situation of an antigen-antibody reaction easily also with a naked eye since the color of a sensor 10 changes from red to a purple-blue color when such an antigen-antibody reaction occurs, an antigen-antibody reaction is cheaply detectable.

[0068] Moreover, since the metal particle 18 to which an antibody 118 opens the predetermined spacing G, without combining with an antigen 114, and drifts and exists in suspension 100 does not contribute to change of the color of the sensor 10 accompanying an antigen-antibody reaction, it does not need to flush suspension 100 from a substrate 12, and can detect the antigen-antibody reaction of an antibody 118 and an antigen 114 on real time.

[0069] Furthermore, it sets in the sensor 10 by this invention. Since one metal particle 14 of the metal particles 14 and the metal particles 18 from which distance changes was arranged in surface 12a of a substrate 12 by the reaction of an antibody 118 and an antigen 114 while it was mutual Handling becomes very easy, further, array-ization can be attained, the amount of a required sample can be reduced and a scanner existing flat bed type etc. can also be used now.

[0070] For example, two-dimensional array-ization of a sensor is easily realizable by combining the antigen 114 of a class which is different on the front face of the metal particle 14 for every predetermined area of a substrate 12.

[0071] Moreover, the application to a DNA chip or a protein chip is also easy for the sensor 10 by this invention, and it can use for detecting a real-time reaction on real time in an area of research, the medical field, etc.

[0072] Since the substrate 12 of the sensor 10 by this invention is transparence, change of an absorption spectrum can be observed easily (refer to drawing 5 ), the shift by the side of the long wavelength of the resonance wavelength of surface plasmon resonance can be detected, and various reactions can be detected further again.

[0073] And in the sensor 10 by this invention, since the metal particle 14 and the metal particle 18 were used and the absorption cross section of a metal particle is large, an antigen-antibody reaction is detectable to high sensitivity.

[0074] Moreover, in the sensor 10 by this invention, if each uses a golden particle as the metal particle 14 and a metal particle 18, since gold is the stable matter, the handling of the metal particle 14 and the metal particle 18 will become easy.

[0075] In addition, the above-mentioned gestalt of operation can deform so that it may explain to following (1) thru/or (5).



[0076] (1) In the above-mentioned gestalt of operation, although the golden particle was used as the metal particle 14 and a metal particle 18, of course, it is not what is restricted to this, and the metal particle of silver or others can be used. For example, when a silver particle is used as the metal particle 14 and a metal particle 18, much more highly sensitive detection can be performed.

[0077] (2) In the above-mentioned gestalt of operation, although the substrate 12 of a sensor 10 was formed with glass, it is natural, and can use the substrate of the ingredient of arbitration, such as dielectric metallurgy groups other than glass, or a semi-conductor. [ of it not being what is restricted to this ]

[0078] Moreover, although it was made for a substrate 12 to be a plate, you may make it form a substrate 12 in the configuration of arbitration including a curved-surface configuration.

[0079] (3) Although an antigen 114 is combined with the front face of the metal particle 14 and the antibody 118 was combined with the front face of the metal particle 18, of course, it is not what is restricted to this, an antibody 118 is combined with the front face of the metal particle 14, and you may make it combine an antigen 114 with the front face of the metal particle 18.

[0080] Furthermore, in the above-mentioned gestalt of operation, although explained as what detects an antigen-antibody reaction using the sensor 10 by this invention, of course, it is not what is restricted to this, and a sensor 10 may be used for detection of various reactions.

[0081] For example, what is necessary is to replace with the antibody 118 combined with the front face of the metal particle 18 in the antigen 114 combined with the front face of the metal particle 14 arranged by the substrate 12, and suspension 100, and just to combine DNA, RNA, etc. of a single strand, respectively, in detecting hybridization using the sensor 10 by this invention.

[0082] That is, if the sensor 10 by this invention is used, various reactions based on the high selectivity of the matter combined with the metal particle 14 metallurgy group particle 18 by combining with the metal particle 14 metallurgy group particle 18 the matter of the property to have high selectivity mutually to the specific matter, respectively, such as protein, nucleic acids, etc., such as an antigen and an antibody, are detectable.

[0083] (4) What is necessary is not to be what is restricted to this of course, for example, to make it measure a reflectance spectrum, a transparency spectrum, etc., and just to, detect the shift of the resonance wavelength of the surface plasmon resonance accompanying change of the distance between metal particles in short in the above-mentioned gestalt of operation, although the absorption spectrum of a sensor 10 was measured (refer to drawing 4 ).

[0084] (5) You may make it combine suitably the modification shown in the above-mentioned gestalt of operation and the above (1) thru/or (4).

[0085]

[Effect of the Invention] Since this invention is constituted as explained above, it does so the outstanding effectiveness that the detection approach of the reaction of the matter using the sensor and it which made it possible to detect the reaction of various matter, such as an antigen-antibody reaction, on real time can be offered.

[0086] Moreover, since it is constituted as explained above, in case this invention detects the reaction of various matter, such as an antigen-antibody reaction, it does so the outstanding effectiveness that it can offer the detection approach of the reaction of the matter using the sensor and it which made it possible to detect cheaply.

とにより、金属微粒子 14 や金属微粒子 18 に結合された物質の高い選択性に基づいた各種反応を検出することができる。

【0083】(4) 上記した実施の形態においては、センサー 10 の吸収スペクトルを測定するようにしたが(図 4 参照)、これに限られるものではないことは勿論であり、例えば、反射スペクトルや透過スペクトルなどを測定するようにしてもよく、要は、金属微粒子同士の間隔の変化に伴う表面プラズモン共鳴の共鳴波長のシフトを検出するようにすればよい。

【0084】(5) 上記した実施の形態ならびに上記(1)乃至(4)に示す変形例は、適宜に組み合わせるようにしてもよい。

【0085】

【発明の効果】本発明は、以上説明したように構成されているので、抗原抗体反応などの各種物質の反応をリアルタイムで検出することを可能にしたセンサーおよびそれを用いた物質の反応の検出方法を提供することができるという優れた効果を奏する。

【0086】また、本発明は、以上説明したように構成されているので、抗原抗体反応などの各種物質の反応を検出する際に、安価に検出することを可能にしたセンサーおよびそれを用いた物質の反応の検出方法を提供しよ

うとすることができるという優れた効果を奏する。

【図面の簡単な説明】

【図 1】 粒径 20 nm の金の微粒子同士の間隔と表面プラズモン共鳴の共鳴波長との関係を示すグラフである。

【図 2】 本発明によるセンサーの実施の形態の一例を示す概念構成説明図である。

【図 3】 本発明によるセンサーを用いて抗原抗体反応を検出する際の動作を示す説明図であり、(a) は抗体が抗原と結合しない場合を示す説明図であり、(b) は抗体が抗原と結合する場合を示す説明図である。

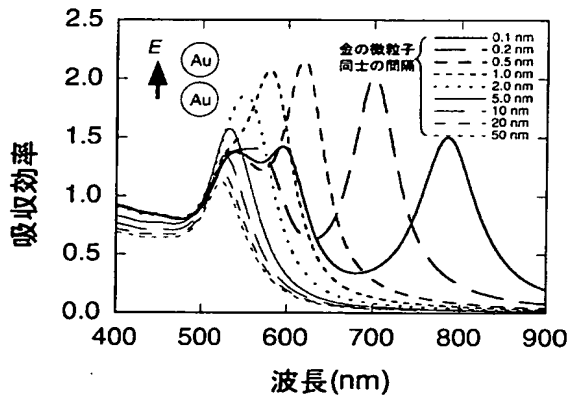
【図 4】 本発明によるセンサーの吸収スペクトルを示すグラフである。

【図 5】 本発明によるセンサーを用いた液体セルに懸濁液を満たした後の吸収スペクトルの時間変化を示すグラフである。

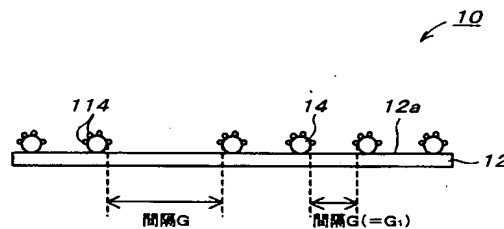
【符号の説明】

10	センサー
12	基板
12a	表面
14, 18	金属微粒子
100	懸濁液
114	抗原
118	抗体

【図 1】



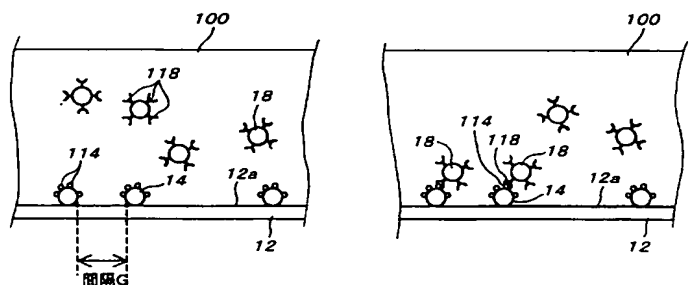
【図 2】



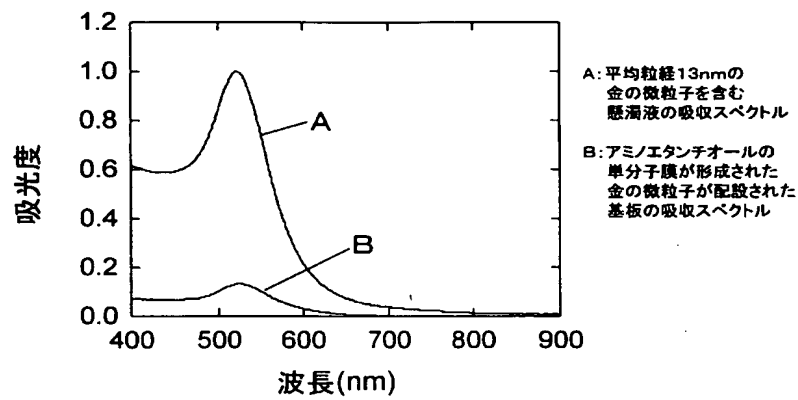
【図 3】

(a)

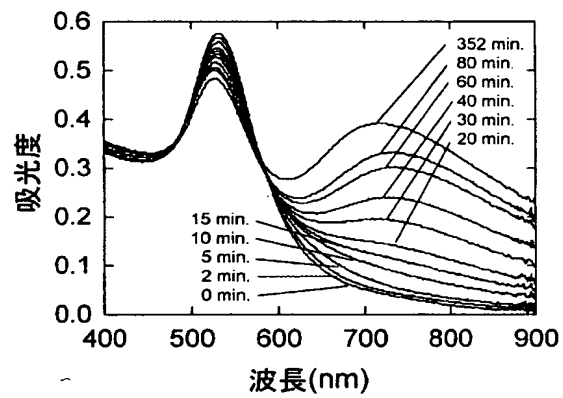
(b)



【図4】



【図5】



フロントページの続き

Fターム(参考) 2G059 BB12 CC16 DD01 DD13 EE01  
EE12 EE13 HH02 HH06 KK04  
KK07